

METHOD OF HEME-COMPATIBLE POLYMERIC HYDROGEL PRODUCING

Patent number: SU1078894
Publication date: 1998-01-10
Inventor: PLATEH N A; BURDYGINA I F; CHUPOV V V; VALUEV L I
Applicant: UNIV MOSKOVSK
Classification:
- **international:** C08F267/10; C08F220/56; C08F267/00; C08F220/00;
(IPC1-7): C08F267/10; C08F220/56
- **european:**
Application number: SU19823428152 19820423
Priority number(s): SU19823428152 19820423

[Report a data error here](#)

Abstract of SU1078894

FIELD: biotechnology, polymers. **SUBSTANCE:** method involves acylation of heparin with acrylic or methacrylic acid chloroanhydride in an aqueous solution followed by addition of acrylamide, bifunctional monomer-cross-linking agent and carrying out the initiated radical copolymerization. Method involves also the additional addition of trypsin acylated with acrylic or methacrylic acid chloroanhydride to reaction solution at weight ratio of acylated heparin : acylated trypsin = (10-50):1. **EFFECT:** increased heme-compatibility of hydrogels.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



(19) **SU** (11) **1 078 894** (13) **A1**
(51) Int. Cl. 6 **C 08 F 267/10, 220/56**

STATE COMMITTEE
FOR INVENTIONS AND DISCOVERIES

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 3428152/05, 23.04.1982

(46) Date of publication: 10.01.1998

(71) Applicant:
Moskovskij gosudarstvennyj universitet
im.M.V.Lomonosova

(72) Inventor: Plateh N.A.,
Burdygina I.F., Chupov V.V., Valuev L.I.

(54) METHOD OF HEME-COMPATIBLE POLYMERIC HYDROGEL PRODUCING

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology, polymers.
SUBSTANCE: method involves acylation of heparin with acrylic or methacrylic acid chloroanhydride in an aqueous solution followed by addition of acrylamide, bifunctional monomer-cross-linking agent and carrying out the initiated radical

copolymerization. Method involves also the additional addition of trypsin acylated with acrylic or methacrylic acid chloroanhydride to reaction solution at weight ratio of acylated heparin : acylated trypsin = (10-50):1. EFFECT: increased heme-compatibility of hydrogels.

S U 1 0 7 8 8 9 4 A 1



(19) **SU** (11) **1 078 894** (13) **A1**
(51) МПК⁶ **C 08 F 267/10, 220/56**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО
ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ
СССР**

(21), (22) Заявка: 3428152/05, 23.04.1982

(46) Дата публикации: 10.01.1998

(56) Ссылки: 1. Авторское свидетельство СССР N 731750, кл. С 08 F 267/10, 1978. 2. Платэ Н.А. и др. Влияние способов иммобилизации протеолитических ферментов в полимерных гидрогелях на гемосовместимость модифицированных полимерных материалов. Высокомолекулярные соединения, том XXII-А, N 9, 1980, с.1963-1973. 3. Авторское свидетельство СССР N 749071, кл. С 08 F 267/10, 1978.

(71) Заявитель:
Московский государственный университет
им.М.В.Ломоносова

(72) Изобретатель: Платэ Н.А.,
Бурдыгина И.Ф., Чупов В.В., Валуев Л.И.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСОВМЕСТИМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ

(57)

Способ получения гемосовместимых полимерных гидрогелей путем ацилирования хлорангидридом акриловой или метакриловой кислоты гепарина в водном растворе с последующим введением акриламида, бифункционального мономера-сшивателя и проведением инициированной радикальной

сополимеризации, отличающийся тем, что, с целью повышения гемосовместимости гидрогелей, в реакционный раствор дополнительно вводят ацилированный хлорангидридом акриловой или метакриловой кислоты трипсин при массовом соотношении ацилированный гепарин : ацилированный трипсин, равном 10 - 50 : 1.

S
U
1
0
7
8
8
9
4
A
1

1 0 7 8 8 9 4 A 1

S
U
1
0
7
8
9
4
A
1

1 0 7 8 9 4 A 1
S U

Изобретение относится к химии полимеров и медицине, к способу получения гемосовместимых полимерных гидрогелей, обладающих способностью лизировать стабилизированный фибрин. Изобретение может быть использовано в медицинской технике и практике для создания долговременных протезов органов или изделий, контактирующих с кровью в условиях функционирования живого организма.

В настоящее время полимерные гидрогели на основе гидрофильных мономеров и бифункциональных мономеров-сшивателей (представляющие собой нерастворимые, но хорошо набухающие в воде и физиологических средах сополимеры) находят широкое применение в качестве гемосовместимых материалов. Как правило, содержание воды в таких системах достигает 80-90%, что приводит к улучшению гидродинамических характеристик этих материалов и к увеличению их гемосовместимости. Однако гемосовместимость известных полимерных гидрогелей зачастую является недостаточной, и поэтому введение в них биологически активных соединений, способных воздействовать на процессы тромбообразования и фибринолиза, в настоящее время является лучшим способом повышения гемосовместимости материалов, контактирующих с кровью. В качестве таких соединений используют фибринолитические ферменты, например урокиназу, стрептокиназу и др. Фибринолитические ферменты используют в основном для кратковременного повышения гемосовместимости, поскольку при введении в живой организм эти ферменты довольно быстро теряют свою ферментативную активность вследствие воздействия на них ингибиторов и других денатурирующих агентов, присутствующих в крови.

Известно, что введение в гидрогели природного антикоагулянта крови - гепарина существенно повышает их гемосовместимость, в основном за счет ингибирования начальных стадий процесса тромбообразования на полимерной матрице.

Однако в больших конструкциях из гидрогелей иммобилизованный гепарин не предотвращает свертывания крови, особенно в области заживленных зон, где вероятность гемокоагуляции наиболее высока. Кроме того, гепарин не обладает литической активностью и не способен лизировать тромб в случае его образования.

Известен способ полученная гемосовместимых полимерных гидрогелей путем радикальной сополимеризации в растворе предварительно ацилированного хлорангидридами акриловой или метакриловой кислоты биологически активного соединения с гидрофильным мономером и бифункциональным мономером-сшивателем, в котором в качестве биологически активного соединения используют сывороточный альбумин человека [1].

Недостаток способа заключается в неспособности гидрогеля ингибировать свертывающую систему крови и лизировать стабилизированный фибрин.

Известен способ получения гемосовместимых полимерных гидрогелей

путем радикальной сополимеризации в водном растворе предварительно ацилированного хлорангидридами акриловой или метакриловой кислоты биологически активного соединения с гидрофильным мономером и бифункциональным мономером-сшивателем, в котором в качестве биологически активного соединения используют фибринолитические ферменты плазмин и антитиназу, выделенную из лучистого гриба [2].

Недостаток способа заключается в том, что такие полимерные гидрогели имеют недостаточно высокие гемосовместимые свойства (время свертывания крови на них составляет около 120 мин, что недостаточно для долговременного контакта с кровью). Кроме того, такие гидрогели не способны воздействовать на процесс тромбообразования, что приводит к тромбированию изделий из этого материала (скорость тромбообразования превосходит скорость лизиса тромба), и не обладают способностью лизировать стабилизированный фибрин.

Наиболее близким к предлагаемому по технической сущности и достижимым результатам является способ получения гемосовместимых полимерных гидрогелей путем ацилирования хлорангидридом акриловой или метакриловой кислоты гепарина в водном растворе с последующим введением акриламида, бифункционального мономера-сшивателя и проведением инициированной радикальной сополимеризации [3].

Недостаток способа также заключается в невысокой гемосовместимости гидрогелей (низкие значения тромбинового времени и неспособность лизировать стабилизированный фибрин).

Целью изобретения является повышение гемосовместимости полимерных гидрогелей (за счет придания им свойств одновременно ингибировать начальные стадии тромбообразования и вызывать лизис тромба в случае его образования).

Поставленная цель достигается тем, что в способе получения гемосовместимых полимерных гидрогелей путем ацилирования хлорангидридом акриловой или метакриловой кислоты гепарина в водном растворе с последующим введением акриламида, бифункционального мономера-сшивателя и проведением инициированной радикальной сополимеризации в реакционный раствор дополнительно вводят ацилированный хлорангидридом акриловой или метакриловой кислоты трипсин при весовом соотношении ацилированный гепарин ацилированный трипсин, равном 10:50:1.

Гидрогели с ковалентно включенным трипсином и гепарином обладают высокой гемосовместимостью: они обладают высокими тромбиновыми временами и высокой лизирующей способностью стабилизированного тромба, по-видимому, за счет образования комплекса гепарин-трипсин, литическая активность которого выше, чем у трипсина, взятого в таких же и даже больших количествах.

Выбор предлагаемого количества этих биологически активных соединений и их соотношения обусловлен невысокой растворимостью трипсина в воде (не более

0,5 мг фермента в 100 мл воды), а также тем, что увеличение количества гепарина в полимерном гидрогеле до выше 1-15% не приводит к существенному увеличению тромбинового времени.

Количества акриламида и бифункционального мономера-сшивателя являются стандартными для получения гидрогелей, обладающих удовлетворительными физико-механическими свойствами (прочность, набухаемость, размер пор и прочие). Регулирование этих свойств производят изменением количества сивающего агента и концентрации мономера в растворе, а также типом используемого сшивателя, в качестве последнего возможно использование бифункциональных соединений, таких как диэфиры акриловой или метакриловой кислоты и энтиленгликоля, N, N метиленбисакриламида и др.

Сополимеризацию мономеров проводят при 0-30°C, используя в качестве инициаторов водорастворимые инициаторы, например персульфат аммония в смеси с активатором N, N, N', N'-тетраметилэтилендиамином, или рибофлавином при облучении УФ светом.

Ацилирование трипсина и гепарина необходимо проводить при 0-4°C и pH 6-9, достигаемом использованием соответствующих буферных растворов, при мольном соотношении биологически активное вещество хлорангидрид 1:10 - 1:250.

При проведении полимеризации в соответствующей форме гидрогели можно получать в различном конструкционном оформлении (пленки, пластиинки, трубы, пробирки, гранулы), что существенно упрощает процесс изготовления изделий из них.

Пример 1. Раствор 3 г гепарина в 20 мл бикарбонатного буфера с pH 8,0 обрабатывают при 0°C 0,089 г хлорангидрида акриловой кислоты (ХАК) в течение 15 мин при интенсивном перемешивании и доводят до комнатной температуры. Раствор 0,3 г трипсина в том же буфере (20 мл) обрабатывают при 0°C 0,0684 г ХАК (мольное отношение трипсин: ХАК 1:50) в течение 15 мин и доводят до комнатной температуры. Растворы объединяют, добавляют 3,63 г акриламида и 0,1089 г сшивателя (метиленбисакриламида), продувают аргоном в течение 10 мин и вводят 0,3% от массы мономеров инициатора (персульфата аммония) и активатора (N, N, N', N'-тетраметилэтилендиамина). Полимеризацию ведут при комнатной температуре 1 ч. Полученный гель измельчают на нейлоновых ситах, промывают водой и физиологическим раствором до отсутствия в промывных водах поглощения при 280 нм, определяемого спектрофотометрически. Гидрогель дают набухнуть в течение 5 ч и определяют величину емкости по растворителю (25 г воды на 1 мл исходного геля). Тромбиновое время,

определенное как время начала образования сгустка фибринна при реакции раствора фибриногена с тромбином или как время начала образования "белого" тромба при инкубировании гидрогеля со свежей плазмой крови, составляет 1800 с. Тромбиновое время в этих системах в отсутствие геля составляет 2 и 14 с соответственно. Гель инкубируют со сгустком стабилизированного фибринна ("белого" тромба) и измеряют оптическое поглощение раствора над тромбом при 280 нм (спектрофотометрически) после определенных промежутков времени. Значение D₂₈₀ становится максимальным после инкубирования в течение 3,5 ч и составляет 0,175. Появление в растворе над тромбом фрагментов белковой природы подтверждается реакцией Лоури (проба с реагентом Фолина-Чиокальтеу).

Данные по примерам 2-8 представлены в таблице, а данные по кинетике лизиса стабилизированного фибринна гидрогелями, содержащими одинаковое количество трипсина, гепарина и их смеси, приведены на графике.

Таким образом, изобретение по сравнению с известным способом позволяет получать гемосовместимые полимерные гидрогели с повышенными гемосовместимыми свойствами (повышенное тромбиновое время и лизис сгустка стабилизированного фибринна). Такое повышение гемосовместимости определяется одновременным ингибированием начальной стадии тромбообразования и лизисом сгустка образующегося фибринна. Простота способа позволяет применять его для создания полимерных материалов, обладающих гемосовместимостью, а устойчивость полимерной матрицы позволяет использовать такие материалы в течение длительного времени в условиях физиологического окружения.

Кинетика лизиса сгустка стабилизированного фибринна полимерными гидрогелями, содержащими одинаковое количество (0,83%) ацилированного гепарина (I), ацилированного трипсина (II) и смеси ацилированных гепарина и трипсина, взятых в весовом соотношении 30:1 (III).

Формула изобретения:

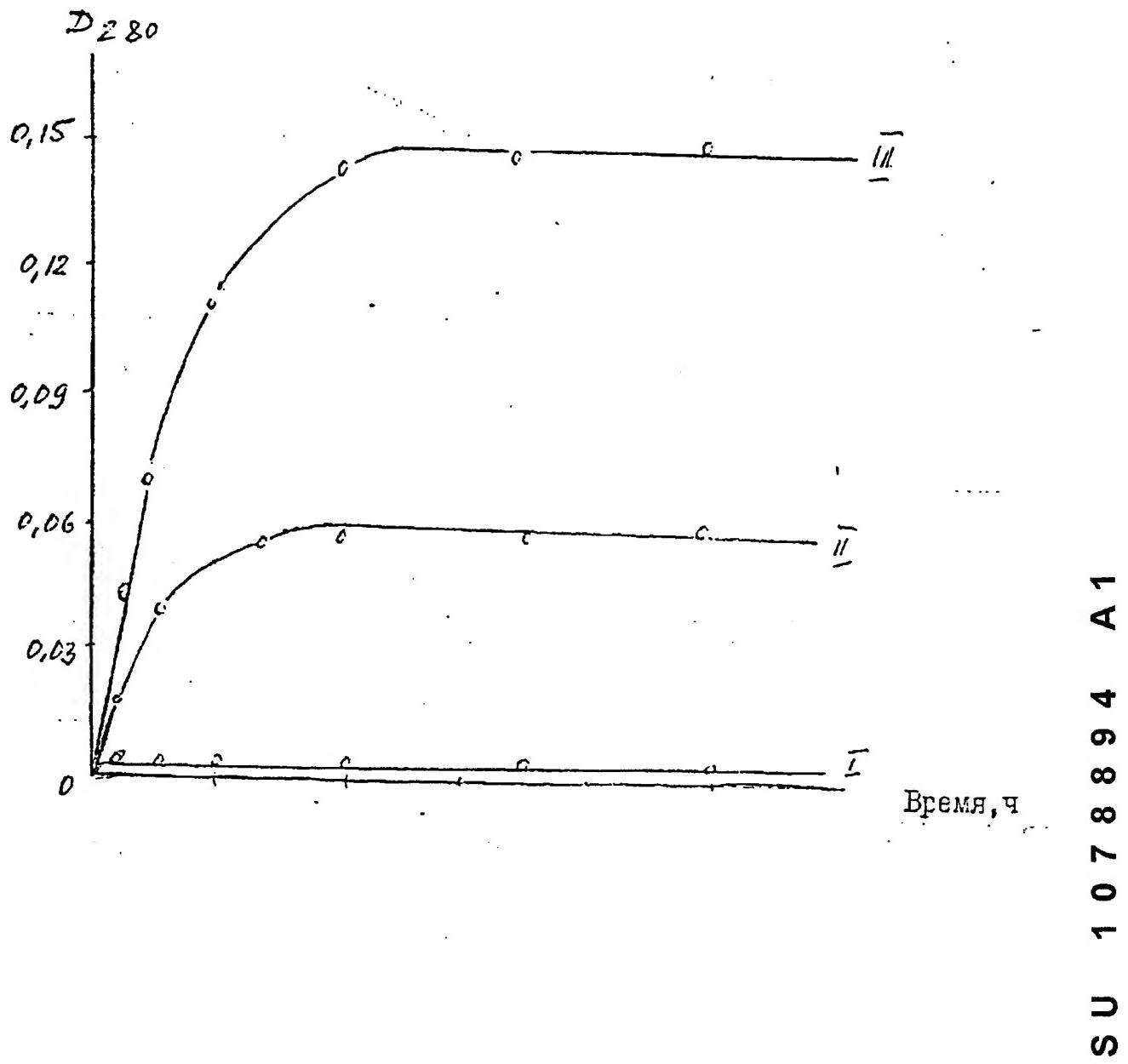
Способ получения гемосовместимых полимерных гидрогелей путем ацилирования хлорангидридом акриловой или метакриловой кислот гепарина в водном растворе с последующим введением акриламида, бифункционального мономера-сшивателя и проведением инициированной радикальной сополимеризации, отличающийся тем, что, с целью повышения гемосовместимости гидрогелей, в реакционный раствор дополнительно вводят ацилированный хлорангидридом акриловой или метакриловой кислот трипсин при массовом соотношении ацилированный гепарин ацилированный трипсин 10:50:1.

A 1 4 9 8 8 7 0 1 1 U S

S U 1 0 7 8 8 9 4 A 1

№ примера	Количество трипсина	Количество хлорангирида, г	Мольное соотношение трипсина : хлорангирид	Количество трипсина в геле, % от массы		Количество гепарина, г	Количество хлорангирида, г
				4	5		
1	0,30	0,0684	1:50	0,83	3,0	0,89	
2	0,18	0,0456	1:50	0,50	5,4	3,19	
3	0,07	0,1090	1:250	0,30	3,5	1,78	
4	0,30	0,3420	1:10	0,83	3,0	6,43	
5	0,20	0,0219	1:250	0,50	0	0	
6	0,30	0,0684	1:50	0,83	0	0	
7	0	0	-	0	2,02	2,02	
8	0	0	-	0	0	0	
Мольное соотношение гепарин : хлорангирид		Весовое соотношение трипсин : гепарин		Количество гидрофильтрального мономера, г	Количество биофункционального сшивателя, г	Количество воды, мл	Тромбиновое время, с
8	9	10	11	12	13	14	
1:50	1:50	3,63	0,11	40	1800	0,175	
1:100	1:30	3,56	0,10	30	135	0,067	
1:100	1:50	3,31	0,09	30	100	0,062	
1:250	1:10	3,63	0	40	140	0,064	
-	-	4,02	0,12	36	12	0,049	
-	-	3,61	0,11	40	12	0,100	
1:100	-	0,06	0,06	20	25	0,002	
-	-	1,00	0,03	10	12	0,002	

Примечание. Количество гепарина в геле по примерам 1, 2, 3 и 7 составляет 8,3; 15; 10 и 10,0% от массы геля, в примере 4 - 5,6%.



S U 1 0 7 8 8 9 4 A 1